



09/762249  
PCT / FR 99 / 01479

REC'D 07 JUL 1999  
WIPO PCT

Q2  
EPU

FR 99/1479

# BREVET D'INVENTION

## CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

### COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 24 JUIN 1999

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

**PRIORITY DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

SIEGE  
INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIETE  
INDUSTRIELLE  
26 bis, rue de Saint Petersbourg  
75800 PARIS Cedex 08  
Téléphone : 01 53 04 53 04  
Télécopie : 01 42 93 59 30

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

Confirmation d'un dépôt par télecopie

Cet imprimé est à remplir à l'encre noire en lettres capitales

Réservé à l'INPI		1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE A QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE		
DATE DE REMISE DES PIÈCES	05/08/98	CABINET REGIMBEAU 26, Avenue Kléber 75116 PARIS		
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL	98 10077 -			
DÉPARTEMENT DE DÉPÔT	<i>JF</i>			
DATE DE DÉPÔT	05 AOUT 1998			
2 DEMANDE Nature du titre de propriété industrielle				
<input checked="" type="checkbox"/> brevet d'invention	<input type="checkbox"/> demande divisionnaire	n° du pouvoir permanent      références du correspondant      téléphone		
<input type="checkbox"/> certificat d'utilité	<input type="checkbox"/> transformation d'une demande de brevet européen	demande initiale	235797 D16333 FPP	01 45 00 92 02
<input type="checkbox"/> différencié	<input checked="" type="checkbox"/> immédiat	<input type="checkbox"/> brevet d'invention	<input type="checkbox"/> certificat d'utilité n°	date
Établissement du rapport de recherche				
Le demandeur, personne physique, requiert le paiement échelonné de la redevance <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non				
Titre de l'invention (200 caractères maximum)				
<b>Gènes impliqués dans les voies moléculaires de la suppression tumorale et/ou la résistance aux virus</b>				
3 DEMANDEUR (S) n° SIREN code APE-NAF				
Nom et prénoms (souligner le nom patronymique) ou dénomination <b>FONDATION JEAN DAUSSET-CEPH</b>				
Forme juridique <b>FONDATION DE DROIT PRIVE</b>				
Nationalité (s) <b>Française</b>				
Adresse (s) complète (s) 27, rue Juliette Dodu, 75010 PARIS Pays <b>FR</b>				
En cas d'insuffisance de place, poursuivre sur papier libre <input type="checkbox"/>				
4 INVENTEUR (S) Les inventeurs sont les demandeurs <input type="checkbox"/> oui <input checked="" type="checkbox"/> non Si la réponse est non, fournir une désignation séparée				
5 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES <input type="checkbox"/> requise pour la 1ère fois <input type="checkbox"/> requise antérieurement au dépôt : joindre copie de la décision d'admission				
6 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTIÉRIEURE				
lieu d'origine	numéro	date de dépôt	nature de la demande	
7 DIVISIONS antérieures à la présente demande n° date n° date				
8 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (nom et qualité du signataire)		SIGNATURE DU PRÉPOSÉ À LA RÉCEPTION	SIGNATURE APRÈS ENREGISTREMENT DE LA DEMANDE À L'INPI	
<i>[Signature]</i> 92-1001		<i>[Signature]</i>		

DEPARTEMENT DES BREVETS

26bis, rue de Saint-Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Tél. : 01 53 04 53 04 - Télécopie : 01 42 93 59 30

BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

DÉSIGNATION DE L'INVENTEUR  
(si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL

X 98 10077

TITRE DE L'INVENTION : Gènes impliqués dans les voies moléculaires de la suppression tumorale et/ou la résistance aux virus

LE(S) SOUSSIGNÉ(S)

FONDATION JEAN DAUSSET-CEPH  
27, rue Juliette Dodu, 75010 PARIS

DÉSIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) (indiquer nom, prénom, adresse et souligner le nom patronymique) :

AMSON Robert  
10, rue Gay Lussac  
75005 Paris, FR

TELERMAN Adam  
12, rue de la Chaise  
75007 Paris, FR

NOTA : A titre exceptionnel, le nom de l'inventeur peut être suivi de celui de la société à laquelle il appartient (société d'appartenance) lorsque celle-ci est différente de la société déposante ou titulaire.

Date et signature (s) du (des) demandeur (s) ou du mandataire

5 août 1998

92-1001

CABINET REGIMBEAU

## **DOCUMENT COMPORTANT DES MODIFICATIONS**

Un changement apporté à la rédaction des revendications d'origine, sauf si celui-ci découle des dispositions de l'article R.612-36 du code de la Propriété Intellectuelle, est signalé par la mention «R.M.» (revendications modifiées).

5 La présente invention concerne la mise en évidence de gènes impliqués dans les voies moléculaires de la suppression tumorale et/ou de la résistance aux virus.

10 La présente invention a été rendue possible par l'isolement d'ADNc correspondant à des ARN messagers exprimés ou réprimés lors de la suppression tumorale et/ou lors du processus d'apoptose induit par le gène suppresseur p53.

15 L'un des gènes suppresseurs les plus importants impliqués dans l'apoptose est le gène p53. Dans sa fonction normale, ce gène contrôle la croissance cellulaire et le processus d'apoptose ; en particulier, c'est ce gène qui bloque la croissance cellulaire et qui doit induire le processus apoptotique afin d'éviter le développement d'un cancer. On a ainsi mis en évidence que des souris nullizygotes pour le p53 étaient beaucoup plus sensibles à la formation de tumeurs. On a également mis en évidence le fait que, dans les cancers, le gène p53 était très souvent altéré et conduisait à la production de protéines 20 incapables de véhiculer le message d'apoptose.

25 C'est cette particularité qui a été mise en œuvre dans le cadre de la présente invention.

En effet, la présente invention repose sur la constatation qu'il n'est pas possible, ou du moins qu'il paraît très difficile, de mettre en place une thérapie de substitution directe lors d'un dysfonctionnement du gène p53. En effet, le p53 muté comme il l'est dans le cancer va annuler l'effet physiologique du p53 normal.

Il a donc fallu renoncer, du moins dans un premier temps, à une thérapie de substitution agissant directement au niveau de p53.

30 La présente invention s'est donc attachée à étudier les gènes situés en aval de p53 afin de « bipasser » la difficulté évoquée précédemment.

Afin d'isoler les gènes activés ou inhibés par le p53 normal (wild-type p53) on a effectué un ratissage global de l'expression des gènes dans une lignée maligne (K562) et une cellule dérivée (KS) avec une suppression du phénotype malin, plus particulièrement dans une cellule exprimant le p53 normal (KS) 5 dans sa fonction et dans une cellule n'exprimant pas de p53 (K562). La comparaison des gènes exprimés (ARN messagers exprimés dans les deux types de cellule) a permis de mettre en évidence des gènes exprimés différemment, c'est-à-dire exprimés dans l'une des cellules alors qu'ils ne le sont pas dans l'autre (les gènes peuvent être activés ou inhibés).

10 On en déduit aisément que ces gènes sont impliqués dans le processus de cancérisation, dans un cas par leur absence, et, dans l'autre cas, par leur présence.

15 Pour cette étude différentielle, la méthode utilisée est la méthode décrite en 1992 par Liang et Pardee (Differential display o eucaryotic mRNA by mean of a polymerase chaîne reaction).

20 L'approche du problème selon la présente invention a permis d'isoler des séquences directement reliées à une fonction. Dès lors, au contraire du séquençage aléatoire des EST, les séquences sont des séquences dont la fonction est connue et qui sont impliquées dans le processus de suppression du phénomène malin et/ou d'apoptose induit par le gène suppresseur p53 et/ou dans la résistance aux virus.

25 Ainsi, la présente invention concerne de nouvelles séquences et les gènes les comportant ainsi que l'utilisation de ces séquences, tant au niveau du diagnostic qu'au niveau de la thérapie, de même que pour la réalisation de modèles destinés à tester des produits anti-cancéreux et anti-viraux.

La présente invention concerne tout d'abord une séquence nucléotidique correspondant à un gène comportant :

- (a) une séquence selon l'une des IND.SEQ 1 à 15 ou un gène équivalent qui comporte:
- 30 (b) une séquence s'hybridant avec l'une des séquences selon (a),
- (c) une séquence présentant au moins 80 % d'homologie avec (a) ou (b), ou

(d) une séquence codant pour une protéine codée par un gène selon (a), (b) ou (c) ou pour une protéine équivalente,  
et leur application notamment dans la suppression du cancer et/ou la résistance aux virus ainsi que dans le suivi thérapeutique.

Il convient de rappeler que les séquences 1 à 15 ne constituent qu'une partie des gènes en cause mais que la présente invention couvre aussi bien la séquence nucléotidique correspondant au gène entier que des fragments de ce gène, notamment lorsqu'ils codent pour une protéine équivalente comme cela sera décrit ci-après.

Les séquences nucléotidiques peuvent être aussi bien de l'ADN que de l'ARN ou des séquences dans lesquelles certains des nucléotides sont non naturels, soit pour améliorer leurs propriétés pharmacologiques, soit pour permettre leur identification.

Les séquences mentionnées en (b) sont essentiellement les séquences complémentaires totales ou partielles (notamment pour les cas évoqués précédemment).

Ainsi, l'invention concerne également les séquences nucléotidiques des gènes présentant une forte homologie avec les gènes mentionnés précédemment, de préférence une homologie supérieure à 80 % sur les parties essentielles desdits gènes, soit en général au moins 50 % de la séquence, de préférence l'homologie sera sur ces parties supérieure à 90 %.

Enfin, lorsque lesdits gènes codent pour une protéine, la présente invention concerne également les séquences codant pour la même protéine, compte tenu de la dégénérescence du code génétique, mais également pour les protéines équivalentes, c'est-à-dire produisant les mêmes effets, notamment les protéines délétées et/ou ayant subi des mutations ponctuelles.

Les séquences selon la présente invention sont plus particulièrement les séquences qui sont induites ou inhibées lors de l'apoptose cellulaire, notamment celles induites par p53 et/ou p21 et/ou TSAP3 (HUMSIAH) et/ou antisens-TSIP2 (antisens-PS1).

Lesdits gènes sont regroupés en TSAP ou "Tumor Suppressor Activated

Pathway", et dénommés de TSAP 9 à TSAP 22 correspondant aux IND.SEQ 1 à 14, et en TSIP ou "Tumor Suppressor Inhibited Pathway", et dénommé TSIP 3, correspondant à IND.SEQ 15.

Les caractéristiques des séquences sont rassemblées dans les tableaux ci-annexés.

Les séquences nucléotidiques correspondant aux gènes TSAP sont des séquences exprimées lors du processus d'apoptose alors que lorsqu'ils ne sont pas exprimés le processus d'oncogénèse se poursuit. Il est donc intéressant:

- de détecter toute anomalie dans le gène correspondant, laquelle peut conduire à une plus grande susceptibilité à l'oncogénèse, et
- de pouvoir prévoir une thérapie de remplacement.

Il faut d'ailleurs rappeler que ces gènes peuvent intervenir dans d'autres processus que les processus de suppression tumorale ; en effet, p53 est en quelque sorte le gardien de l'intégrité du génome, dans ces conditions les gènes TSAP ou TSIP sont sans doute également impliqués dans cette fonction de contrôle, c'est donc l'ensemble des altérations possibles du génome qui peuvent être redevables de la détection et de la thérapie précédente. Au contraire, les gènes TSIP sont exprimés lors de l'oncogénèse et cette expression est diminuée voire inhibée lors de l'apoptose et de la suppression tumorale, il est donc là aussi intéressant de détecter l'éventuelle anomalie des TSIP et également de prévoir une thérapie d'inhibition/blocage.

La thérapie de remplacement pourra être effectuée par thérapie génique, c'est-à-dire en introduisant le gène TSAP avec les éléments qui permettent son expression *in vivo*. Les principes de la thérapie génique sont connus. On peut utiliser des vecteurs particuliers, viraux ou non viraux, par exemple des adénovirus, rétrovirus, virus herpès ou poxvirus. La plupart du temps ces vecteurs sont utilisés sous forme défectifs qui serviront de véhicules d'expression de TSAP avec ou sans intégration. Les vecteurs peuvent être également synthétiques, c'est-à-dire mimer des séquences virales, ou bien être constitués par de l'ADN ou de l'ARN nu selon la technique développée notamment par la société VICAL.

Dans la plupart des cas, il faudra prévoir des éléments de ciblage assurant une expression tissus ou organes spécifiques, en effet, il n'est pas possible d'envisager d'activer un phénomène d'apoptose incontrôlé.

La présente invention concerne donc l'ensemble des vecteurs décrits 5 précédemment.

La présente invention concerne également les cellules transformées par un vecteur d'expression tel que décrit précédemment ainsi que la protéine pouvant être obtenue par culture de cellules transformées.

Les systèmes d'expression pour produire des protéines peuvent être 10 aussi bien des systèmes eucaryotes tels que les vecteurs précédents que des systèmes procaryotes dans des cellules de bactéries.

15 L'un des intérêts de la présente invention est qu'elle a mis en évidence l'implication de plusieurs gènes dans l'apoptose ; ainsi, la surexpression de l'un des gènes par thérapie génique peut, pour certains d'entre eux, ne conduire à l'apoptose que les cellules dans lesquelles s'expriment déjà d'autres gènes déréglés, c'est-à-dire des cellules malignes.

La présente invention concerne également, à titre de médicament, un composé assurant l'expression cellulaire d'au moins une des séquences nucléotidiques précédentes lorsqu'elle est induite lors de l'apoptose et/ou de la suppression tumorale, notamment des gènes TSAP 9 à TSAP 22, ou au contraire assurant l'inhibition de l'expression cellulaire d'au moins une 20 séquence cellulaire telle que décrite précédemment lorsqu'elle est inhibée lors de l'apoptose et/ou de la suppression tumorale, notamment TSIP 3.

Il est, par exemple, possible de prévoir d'autres approches que la thérapie génique, notamment l'utilisation de séquences nucléotidiques en stratégie sens ou antisens, c'est-à-dire pouvant bloquer l'expression de TSIP ou au contraire, agissant en amont, favorisant l'expression de TSAP. 25

On peut également prévoir une stratégie de remplacement directe par apport de protéines correspondant à TSAP ou d'anticorps inhibiteurs 30 correspondant à TSIP.

Enfin, il est possible de prévoir l'utilisation de molécules non protéiques

dont l'activité sera d'activer TSAP ou de mimer l'action de son produit d'expression ou bien d'inhiber TSIP ou bien de bloquer l'action de son produit d'expression.

Ces produits peuvent être aisément testés sur les cellules modifiées qui 5 sont décrites dans les exemples en introduisant les produits à tester dans la culture cellulaire et en détectant l'apparition du phénomène apoptotique.

Dans les stratégies à ADN, ARN ou protéique les produits sont bien entendu élaborés en fonction des séquences qui sont décrites.

La présente invention concerne en particulier l'utilisation des 10 médicaments précédents en tant qu'agent anti-cancéreux.

Mais le produit des gènes TSAP 9 à 22 et TSIP 3 est également utile comme agent antiviral, comme cela apparaîtra à la lecture de l'exemple.

La présente invention concerne donc également l'utilisation des médicaments précédents comme agent antiviral.

15 De plus, la présente invention concerne à titre d'agent de diagnostic pour la détermination de la prédisposition au cancer, tout ou partie des séquences selon l'invention à utiliser comme sonde nucléotidique ou comme amorce d'amplification, mais également à titre d'agent de diagnostic pour la détermination de la prédisposition au cancer un antigène correspondant à tout 20 ou partie des protéines codées par la séquence selon l'invention ou les anticorps correspondants, éventuellement après culture.

Les méthodes de diagnostic sont connues, il peut s'agir, par exemple, de techniques de microséquençage des parties variables après isolement et amplification éventuelle ou des méthodes de détection type RFLP ou 25 d'amplification simple notamment. Les techniques différentielles peuvent, en particulier, permettre de mettre en évidence l'écart entre le TSAP ou TSIP normal et anormal.

L'invention concerne également des modèles mettant en oeuvre les séquences précédentes.

30 D'autres caractéristiques de l'invention apparaîtront à la lecture de l'exemple ci-après.

## MATERIELS ET METHODES

### Cultures cellulaires

5        Les cellules K562, KS, KS2 et KS3 ont été utilisées comme modèles. La lignée K562 est une lignée tumorale, dérivée d'une leucémie chronique de type érythromyéloïde. Elle est caractérisée notamment par un chromosome de Philadelphie qui contient la translocation (9,22), où il y a un réarrangement du gène bcr avec le proto-oncogène abl. Cette lignée a par ailleurs un caryotype 10 anormal et surexprime les oncogènes myc et pim-1. Ces lignées sont décrites dans la référence A. Telerman et al. : A model for tumor suppression using H-1 parvovirus, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 90, pp. 8702-8706, September 1993.

En résumé, un monoclonal de K562 a été infecté par le parvovirus H-1. 15 Cette infection a causé une mort massive de la culture cellulaire. Après un maintien de cette culture pendant une période de deux mois, le clone KS a été isolé. La même expérience effectuée une seconde fois a fourni, après trois mois d'incubation, les clones KS2 et KS3.

En employant la même approche, les inventeurs ont dérivé d'une 20 population de cellules malignes U937 les lignées US3 et US4 qui sont résistantes au parvovirus H-1 et qui présentent une suppression du phénotype malin. Ces lignées sont décrites dans la référence (7).

Des cellules de leucémie myéloïde M1 et des cellules M1 ont été 25 transfectées de façon stable avec un mutant sensible à la température val 135 p53 (LTR6).

Ces cellules sont cultivées sur milieu RPMI 1640 avec 10 % FCS à 5 % de CO<sub>2</sub> à 37°C (3). Pour la modification de la température, les cultures sont placées dans un second incubateur à 32°C.

30        Lignée U937 transfectée par p21<sup>WAF1</sup> : la partie codante complète du cDNA du gène p21<sup>WAF1</sup> a été clonée dans le vecteur pBK-RSV (Stratagene, La Jolla, Californie. 3,5 millions de cellules U937 ont été transfectées avec 20

microgrammes d'ADN/30 microgrammes Lipofectin (Life Technologies).

Les transfectants stables ont été sélectionnés à l'aide de 1,5 mg/ml de G418 (Sigma). Les caractéristiques de cette lignée, décrivent notamment une suppression du phénotype malin.

5        Lignée U937 transfectée par TSIP2 (PS1) en position antisens : la partie codante complète du cDNA du gène TSIP2 (PS1) a été clonée en position antisens dans le vecteur pBK-RSV (Stratagene, La Jolla, Californie). 3 millions de cellules U937 ont été transfectées avec 20 microgrammes d'ADN/30 microgrammes Lipofectin (Life Technologies).

10      Les transfectants stables ont été sélectionnés à l'aide de 1,5 mg/ml de G418 (Sigma). Les caractéristiques de cette lignée, décrivant notamment un ralentissement de la croissance, une activation de l'apoptose et une suppression du phénotype malin, ont été décrites dans la référence (8).

15      Lignée U937 transfectée par TSAP3 (HUMSIAH) : la partie codante complète du cDNA du gène TSAP3 a été clonée dans le vecteur pBK-RSV (Stratagene, La Jolla, Californie). 3 millions de cellules U937 ont été transfectées avec 20 microgrammes d'ADN/30 microgrammes Lipofectin (Life Technologies).

20      Les transfectants stables ont été sélectionnés à l'aide de 1,5 mg/ml de G418 (Sigma). Les caractéristiques de cette lignée, comportent notamment une activation de l'apoptose et une suppression du phénotype malin.

#### Etude des ADNc différentiels

25      Pour effectuer les tests dans des conditions expérimentales standards et pour obtenir une reproductivité totale des résultats, les modifications suivantes au protocole d'origine (1) ont été effectuées :

30      On utilise toujours des ARNm polyA+ purifiés deux fois sur colonne d'oligodT utilisant Fast Track (Invitrogen, San Diego CA). Après transcription réverse (M-MLV Reverse Transcriptase, Gibco BRL) sur 0,05 µg de polyA+ utilisant 20 µM de chacun des dNTP (Boehringer-Mannheim), aucun dNTP additionné n'est ajouté au mélange de PCR final. Un « hot start » à 94°C

pendant 5 minutes est effectué avant la PCR (GeneAmp PCR system 9600 Perkin Elmer Cetus). Les échantillons sont refroidis rapidement sur de l'eau glacée. Un « touch down » (2) de 10 cycles de 50°C à 40°C est effectué (94°C 30 secondes – 50°C 1 minute – 72°C 30 secondes), suivi par 35 cycles (94°C 5 secondes – 40°C 1 minute – 72°C 30 secondes) et une extension finale de 5 minutes à 72°C. Les produits de la PCR sont séparés sur gels de polyacrylamide à 6 % non dénaturant (4). Les gels sont exposés sans séchage. Chaque présentation différentielle est effectuée en comparant M1S6 et LTR6 à 37°C et après 4 heures d'incubation des deux lignées cellulaires à 32°C.

La procédure de présentation différentielle est répétée dans 3 expériences différentes pour confirmer une parfaite reproductibilité.

Les bandes exprimées différemment sont découpées à partir du gel, éluées et réamplifiées (1). Les produits de PCR sont sous-clonés en utilisant le système TA-cloning (Invitrogen, San Diego CA) en suivant les indications fournies.

Pour chaque réaction de ligation, 10 clones recombinants sont séquencés en utilisant le système automatique ABI.

#### Extraction des ARN, analyses et sondes Northern blots

L'ARN total est extrait avec du Trizol (Life Technologies). Les ARN polyA+ sont préparés en utilisant le kit OligotexdT (Qjagen, CA). 30 µg de l'ARN total ou 2 µg d'ARN polyA+ sont séparés sur agarose 1 % 1 x MOPS/2 % gel de formaldéhyde, transférés sur membrane de nylon (Hybond N+, Appligène, France) comme cela a été décrit précédemment (5). Les Northern blots sont hybridés avec des sondes marquées au P<sup>32</sup> sur les inserts TSAP et TSIP et lavés comme décrit précédemment (5). Pour vérifier l'induction de la fonction du p53 sauvage, les Northern blots sont hybridés avec une sonde cycline G (6). A titre de contrôle pour la quantité d'ARNm chargée, les bots sont hybridés avec une sonde GAPDH. Différents Northern blots (Clontech CA) sont utilisés dans des conditions identiques et hybridés pour contrôle avec une sonde β-actine. Les Northern blots sont exposés pendant 10 jours à – 80°C.

### Exemple 1

Le but recherché est de caractériser les voies moléculaires qui mènent à la suppression du cancer.

5 De façon à élaborer un modèle, on a fait l'hypothèse suivante : s'il était possible de sélectionner, à partir d'une tumeur qui soit sensible à l'effet cytopathique du parvovirus H-1, les cellules qui étaient résistantes, cette résistance pourrait être due à un changement de leur phénotype malin. Ceci a pu être démontré pour les cellules KS sélectionnées à partir des cellules  
10 érythro-leucémiques K562. Contrairement à la lignée parentale K562, les clones KS, KS2 et KS3 sont résistants à l'effet cytopathique du parvovirus H-1. En outre, les cellules KS, KS2 et KS3 ont une réduction de leur tumorigénérité de 90 %, alors que cultivées dans du "soft agar", ces mêmes lignées KS ont une réduction de leur tumorigénérité *in vivo* lorsqu'injectées dans des souris  
15 immunodéprimées Scid-Scid. Au niveau moléculaire, on a pu remarquer que cette suppression du phénotype malin allait de pair avec une réexpression du gène suppresseur p53.

15 ADNc exprimés de manière différentielle entre les cellules K562 et KS ont été isolés. TSAP 9 est homologue aux chaperonines.

20 Le Tableau 1 rassemble les molécules caractérisées, en reprenant les amorces ainsi que les tailles des mRNAs détectés par Northern blot.

De ces 15 molécules, toutes sont induites dans les cellules KS, hormis TSIP 3, dont l'expression est inhibée durant la suppression du phénotype malin.

25 Dans des expériences de transfection, on a également pu démontrer que la résistance à l'effet cytopathique du parvovirus H-1 allait de pair avec une fonction intacte du gène p53 et que des cellules transfectées avec des mutants p53 devenaient sensibles à l'effet cytopathique du parvovirus H-1.

30 Les 15 molécules que nous avons isolées codent donc des gènes dont la surexpression ( TSAP 9 – TSAP 22) ou l'inhibition ( TSIP 3) est associée non seulement à la suppression du cancer mais également à la résistance au parvovirus H-1. Ces gènes codent par conséquent pour des molécules faisant

partie des voies moléculaires de la suppression du cancer et sont de potentiels gènes suppresseurs.

Afin de mieux cerner les voies d'activation p53/p21, les inventeurs ont étudié :

- 5        - l'activation de ces TSAP / inhibition des TSIP dans le modèle p53 thermosensible développé dans Moshe Oren,
- 10      - l'activation de ces TSAP / inhibition des TSIP dans le modèle où les cellules U937 sont transfectées par le gène p21,
- 15      - l'activation des nouveaux TSAP / inhibition des TSIP dans le modèle où les cellules U937 sont transfectées par le gène TSAP3, et
- 20      - l'activation de ces nouveaux TSAP/TSIP dans le modèle où les cellules U937 sont transfectées par le gène TSIP2 (PS1) en position antisens.

Le Tableau I ci-après rend compte de résultats d'expressions différentielles analysées par Northern blot des différentes sondes (TSAP9-TSAP22, TSIP3) du modèle K562/KS ainsi que des autres modèles U937/US3-US4, c'est-à-dire dans un modèle de suppression tumorale dans lequel le gène p21 est activé par la voie p53 indépendante. Ces ADNc sont donc activés dans deux systèmes cellulaires différents de suppression tumorale (le modèle d'érythroleucémie K562/KS et le modèle myéломonocytaire U937/US).

D'après ce tableau, on constate que dans la majeure partie des cas, les gènes exprimés différentiellement dans le modèle K562/KS sont également exprimés différentiellement dans le modèle U937/US3-US4. Il existe donc une machinerie moléculaire de la suppression tumorale commune à différents types de cancer. Cette conclusion est également valable pour le modèle M1/LTR-6. Il faut noter dans ce dernier cas que l'absence de signaux dans certains TSAP-TSIP est probablement due au fait que les expérimentations ont été réalisées dans deux systèmes hétérologues (des sondes humaines sur de l'ARN de souris).

TABLEAU I

CLONE A EXPRESSION DIFFÉRENTIELLE	AMORCES 3' ET 5' *	SONDE ADNc K562/KS	HOMOLOGIE	MODÈLE
				K562/KS
				mRNA kb
TSAP 9	T11AA-9	K26 D3	Chaperonine◊	2,6
TSAP 10	T11AA-9	K25.0 A11		1,6
TSAP 11	T11AA-9	K25.0 B7	EST	2,9
TSAP 12	T11AA-9	K27.1 C7	EST	5,5
TSAP 13	T11AA-23	K25.1 F3	EST	1,8
TSAP 14	T11AC-5	K33.2 F10	EST	2,5
TSAP 15	T11AG-19	K22 E3	EST	1,6
TSAP 16	T11GC-2	K12.1 F5		2,8
TSAP 17	T11GC-12	K16.1 C7		1,8
TSAP 18	T11GG-5	K3.1 D2	EST	2,0
TSAP 19	T11GG-23	K5.2 E 10	EST	1,5
TSAP 20	T11GG-23	K5.1 A12		1,7
TSAP 21	T11GG-23	K5.1 A1	EST	2,1
TSAP 22	T11GG-5	K3.1 A12	EST	2,8
TSIP 3	T11AC-5	K33.1 B11	EST	9,5

\* les chiffres et les séquences des amorces en 5' correspondent à ceux rapportés par Bauer et al.

◊ HUMKG1DD ARNm humain pour l'ORF (équivalent humain de la chaperonine de souris contenant le gène TCP-1 (t-complexe polypeptide)).

**TABLEAU 1 (suite)**

CLONE A EXPRESSION DIFFÉRENTIELLE	MODELE U937/USJ-US4		CLONE A EXPRESSION DIFFÉRENTIELLE	MODELE MI/LTR 6	
	RESULTAT	mRNA kb		RESULTAT	mRNA kb
TSAP 9	EXP. DIFF.	2,0	TSAP 9	EXP. DIFF.	2,6
TSAP 10	NO EXP. DIFF.	1,6	TSAP 10	NO SIGNAL	1,6
TSAP 11	NO EXP. DIFF.	2,8	TSAP 11	NO SIGNAL	2,9
TSAP 12	NO SIGNAL		TSAP 12	NO SIGNAL	5,5
TSAP 13	EXP. DIFF.	1,5	TSAP 13	EXP. DIFF.	1,8
TSAP 14	EXP. DIFF.	2,8	TSAP 14	EXP. DIFF.	2,5
TSAP 15	EXP. DIFF.	1,8	TSAP 15	NO SIGNAL	1,6
TSAP 16	EXP. DIFF.	2,0	TSAP 16	EXP. DIFF.	2,8
TSAP 17	EXP. DIFF.	1,9	TSAP 17	EXP. DIFF.	1,8
TSAP 18	NO EXP. DIFF.	1,8	TSAP 18	EXP. DIFF.	2,0
TSAP 19	EXP. DIFF.	1,6	TSAP 19	NO SIGNAL	1,5
TSAP 20	EXP. DIFF.	1,9	TSAP 20	NO SIGNAL	1,7
TSAP 21	EXP. DIFF.	1,9	TSAP 21	EXP. DIFF.	2,1
TSAP 22	EXP. DIFF.	2,6	TSAP 22	EXP. DIFF.	2,8
TSIP 3	NO SIGNAL		TSIP 3	NO SIGNAL	9,5

EXP DIFF. = Expression différentielle

5 NO EXPR. DIFF. = Pas d'expression différentielle

Le Tableau 2 ci-après résume l'expression différentielle de certains clones TSAP et TSIP dans différentes lignées de transfectants.

Il se dégage de ce tableau que, dans la majeure partie des cas, les 10 transfectants p21 ou transfectants TSAP3 ou transfectants antisens-TSIP2 sont capables d'activer la machinerie moléculaire de la suppression tumorale commune aux systèmes U937/US et K562/KS.

TABLEAU 2

CLONE	TRANSFECTANTS P21	TRANSFECTANTS TSAP3	TRANSFECTANTS TSIP2
	EXPRESSION DIFFÉRENTIELLE	EXPRESSION DIFFÉRENTIELLE	ANTISENS EXPRESSION DIFFÉRENTIELLE
TSAP9	OUI	OUI	OUI
TSAP10	NON	NON	NON
TSAP11	NON	NON	NON
TSAP12	NON	NON	NON
TSAP13	OUI	OUI	OUI
TSAP14	OUI	OUI	OUI
TSAP15	OUI	OUI	OUI
TSAP16	NON	OUI	NON
TSAP17	OUI	NON	NON
TSAP18	NON	OUI	OUI
TSAP19	NON	NON	NON
TSAP20	ND*	ND*	ND*
TSAP21	OUI	NON	OUI
TSAP22	OUI	OUI	OUI
TSIP3	OUI	OUI	OUI

5 \* Non déterminé

## LISTE DE SEQUENCES

(1) INFORMATIONS GENERALES:

## (i) DÉPOSANT:

- (A) NOM: FONDATION JEAN DAUSSET - CEPH
- (B) RUE: 27, RUE JULIETTE DODU
- (C) VILLE: PARIS
- (E) PAYS: FRANCE
- (F) CODE POSTAL: 75010

(ii) TITRE DE L' INVENTION: SEQUENCES ASSOCIEES A LA SUPRESSION DES CANCERS ET A LA RESISTANCE AU PARVOVIRUS H-1

(iii) NOMBRE DE SEQUENCES: 15

## (iv) FORME DECHIFFRABLE PAR ORDINATEUR:

- (A) TYPE DE SUPPORT: Floppy disk
- (B) ORDINATEUR: IBM PC compatible
- (C) SYSTEME D' EXPLOITATION: PC-DOS/MS-DOS
- (D) LOGICIEL: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (OEB)

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 1:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 303 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC

## (ix) CARACTERISTIQUE:

NOM/CLE: TSAP9

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 1:

TCGGTCATAG TCTGGATGGG ATTCA	TGATA TGAAGCAACA GCATGTCATA GAAACCTTGA	60
TTGGCAAAA GCAACAGATA TCTCTTGAA CACAAATGGT TAGAATGATT TTGAAGATTG		120
ATGACATTG TAAAGCCTGGA GAATCTGAAG AATGAAGACA TTGAGAAAAC TATGTAGTAA		180
GATCCACTTC TGTGATTAAG TAAATGGATG TCTCGTGATG CGTCTACAGT TATTATTGT		240
TACATCCTTT TCCAGACACT GTAGATGCTA TAATAAAAAT AGCTGTTGG TTAAAAAAA		300
AAA		303

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 2:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
 (A) LONGUEUR: 107 paires de bases  
 (B) TYPE: nucléotide  
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple  
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:  
 (NOM/CLE: TSAP10

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 2:

TCGGTCATAG ATATGGAGTG GAAATTGGA GTGACATCTG GGAGCAGCGA ATTGGAGAAA	60
TGCGGAAAGTA TATTTTACA ACTAAGTTG GTGGTTAAA AAAAAAA	107

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 3:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
 (A) LONGUEUR: 100 paires de bases  
 (B) TYPE: nucléotide  
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple  
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:  
 NOM/CLE: TSAP11

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 3:

TCGGTCATAG CGGTTCCAAG ATTAGCTTCT ACTGCTTCCT GTAGCTTGGC TAATATACTC	60
TGCTTTACAG CTGATGATAT GGTGTTGTTA AAAAAAAAAA	100

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 4:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
 (A) LONGUEUR: 467 paires de bases  
 (B) TYPE: nucléotide  
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC

(ix) CARACTERISTIQUE:  
NOM/CLE : TSAP12

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 4:

TCGGCTCATAG	TAATTCAGC	ATGAAAGAGA	ATATTACAGA	AAAGACAGCA	GCAGAAGCAT	60
TAGCATTATC	TAATATTTAT	ATATGTTATC	AACATAACAC	AGCAGTAAAA	GGTTAAATG	120
CATATCAATC	GGTACCATGT	CTAAAAATTA	CTATAGTACC	TATTTAGTGT	ATTGGATATT	180
TTTCTTAAAC	AGTGTTTGCT	GTAACTAGAA	CACCATAATA	CATGATTAG	TACAGTTAAT	240
TCTTATTGAT	TAATAATGCT	ATTTATGTAC	TGAAGAAAGT	AAAAAGGAGA	CAGATATTTT	300
TTGCTTCATT	TTGATTCCAG	ATTTAACATT	TAATGAAGA	TTCCAAAGGA	CCATGACATG	360
TCATTATTTA	ACTGAAATGG	GCTTCAAAAT	ATTTAAAAGA	CGGTATGATT	TGTATCTAAA	420
CAGCAAGGTC	GCACCAAGATA	CACGTAAATGC	TACTGGCCTA	TGACCGA		467

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 5:(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
(A) LONGUEUR: 154 paires de bases  
(B) TYPE: nucléotide  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC

(ix) CARACTERISTIQUE:  
NOM/CLE: TSAP13

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 5:

AAAGCAGAGG	GGTTTATTAT	AGGAACATTC	TCAAACCGCA	ACGGAAAAGA	TGTCCGTACA	60
GGTGGATGGG	GATGGAGATC	CACCTCGGAG	TACACAGACT	TCAGGGGCC	TCCTGCCTGG	120
CACGTTCTTT	CTCTCCCGTA	TCACCTATGA	CCGA			154

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 6:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
(A) LONGUEUR: 102 paires de bases  
(B) TYPE: nucléotide  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: TSAP14

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 6:

GCAACCAATC CTAAAGAATA TTCTTACATA TAATAAAGAA TTCCCATTG ATGTTCAGCC 60  
TGTCCCCATTA AGAAGAATTG TGGCACCTGG TAAAAAAA AA 102

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 7:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
(A) LONGUEUR: 56 paires de bases  
(B) TYPE: nucléotide  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: TSAP15

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 7:

GATTCTTTA ATATTTCAC AATGTTAAA CTAAAATGA GCTCTAGGCT ATGATC 56

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 8:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
(A) LONGUEUR: 90 paires de bases  
(B) TYPE: nucléotide  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

## (ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSAP16

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 8:

TGGATTCGTC CAGGATTGGG CTTTTGCTAG TCCATAGCAA TTCCAAAGGGC AGTGGGCTAG	60
TGTTATGACA ATATTTGGCAA AAAAAAAA	90

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 9:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 131 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC

## (ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSAP17

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 9:

CTGTTGATG TAGGAGGGAT TAAGTTAGTA TTTCCCGTAT CGACCAAGAC AAAAAATACAA	60
TATAACCCATA ACAAAGACAA ACACCAGTTA CTTGGCTCAA TATCCAAGTT TTAAACCTAGC	120
AAAAAAA A	131

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 10:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 121 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC

## (ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSAP18

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 10:

GGAAACCAATC	CCAAACACAAAC	TGGATTCTAC	TGAATTACC	ACATATTGAA	GGTCCACAAAG	60
CACAAAGTATA	GATCTAATGCC	AAACTGGGCT	CAGATTAGCA	GATCCATGCC	AAAAAAA	120
A						121

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 11:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
- (A) LONGUEUR: 444 paires de bases
  - (B) TYPE: nucléotide
  - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
  - (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC

## (ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: TSAP19

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 11:

TTTTTTTTTTT	TGGGACAGTC	TGCTGTATT	GCCCAGGCTG	GAGTGTGGTG	GCACAAATCAC	60
AGCTCATTCG	ATCCTCAATC	ACCCAGGCCT	AAAGCAATCCT	CCCACCTTGT	AGCTGGGACT	120
ACAGCTCACA	GCACACCTGG	CTAAAATTTT	TTTTTTGTTG	AGACGGATTC	TCTATGTTGC	180
CCACGGCTGGT	CTCAGGGCTCC	TGGGCTCAGA	TGGTCCCTCCT	GCCTCAGCTT	CCAAAGGCAC	240
AGGCCAAGTT	GTAAGCTTGT	CCCTTGCCAT	CATGCCAAC	AAGAGGTTCT	ATACCTTTA	300
ATGAATTGAC	TTTCATAAAAT	TGGTTATGTT	GGTGGGCAAG	TTCTTTAAGC	TGGAAATTGT	360
AAATTCCCTCC	TGAAATGTTT	TTTCATGCAG	TTACCATGAA	CTAATACTAC	AATAAAGGAT	420
GGTCTTGGGT	GCCAAAAAAA	AAAA				444

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 12:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
- (A) LONGUEUR: 151 paires de bases
  - (B) TYPE: nucléotide
  - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
  - (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC

(ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSAP20

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 12:

GATCTGACTG TAGGGACTAT ATTCAATTACT GCTGGACTAT GCTGCTTCC CCAACCCCT	60
AGGATTTAA AAATAGCACG CTGCACTTGA AACAGGGAA GACACTGTAT AACATCCAAA	120
TGTTCTTCTT CCCTAGAGGC CAAAAAAA A	151

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 13:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 240 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSAP21

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 13:

GATCTGACTG TAGGGTGAAT GTCTGAGGCC TGCCTCCTAA TAAAGACTCA AGGAGGAAGT	60
CAATTGGCA TCTGCTAATA GAATGAACTC ATGATGGAA CTTCAGTTCA TTTACTTTGT	120
CCTGAAAATT CCCTGGTTCT GTTCCATTAA GAGCGAAATT GGCCTGGGA AAAACCACGT	180
TCTTCCTTTC CGATTCTTCA TCCGGTCTAC GCTATGCAAT TCCTCCCCAA AAAAAAAA	240

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 14:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 260 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC

(ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSAP22

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 14:

GGAACCAATC	AATAATTTTA	AGCTTTGTT	TGTTCTAAAT	GTAAAGACTTC	AGACTCACAT	60
TCTATTAAA	TTTAGCCCTA	AAATGACAAG	CCTTCTTAAA	CCCTTATTTC	TCAAAAGCGC	120
CCCCCCATT	CTTGTTAGA	TTAAAGAGTTG	CCAAAAAAA	AAA	AGAAAAAGA	180
AAA	AAAGAAATGA	GAAAGAAATG	ACCTTCTAGA	TCAATTACCA	GTCTGTGTGT	240
					GTCTGTGCCA	260
					AAA	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 15:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 144 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC

(ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSIP3

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 15:

GGAACCAATC	CAAATGCCCA	TCAATGATAG	ACTAGATAAA	GAAAATATAG	TACATATGCA	60
CCATGTAATA	CTATGCAGCC	GTAAAAAAA	AAAAAAA	AGACAGACAA	GGCCAAGGCC	120
AGGCACGGTG	GGTAAAAAAA	AAAA				144

REFERENCES

- (1) Liang P. & Pardue A.B. (1992) Science, 257, 967-971
- (2) Don R.H., Cox P.T., Wainwright B.J., Baker K. & Mattick J.S. (1991)  
5 Nucl. Acids Res., 19, 4008
- (3) Yonish-Rouach E., Resnitzky D., Lotem J., Sachs L., Kimchi A. & Oren M. (1991) Nature 352, 345-347
- (4) Bauer D., Muller H., Reich J., Riedel H., Ahrenkiel V., Warthoe P. &  
Strauss M. (1993) Nucl. Acids Res. 21, 4272-4280
- 10 (5) Sambrook J., Fritsch E.F. & Maniatis T. (1989) Molecular Cloning : a laboratory manual
- (6) Okamoto K. & Beach D. (1994) EMBO J., 13, 4816-4822
- (7) Nemanic M., Linares-Cruz G., Bruzzoni-Giovanelli H., Roperch J.-P.,  
Tuynder M., Bougueret L., Cherif D., Medhioub M., Pasturaud P., Alvaro  
15 V., Der Sarkissian H., Cazes L., Le Paslier D., Le Gall I., Israeli D., Dausset J., Sigaux F., Chumakov I., Oren M., Calvo F., Amson R. B., Cohen D. and Telerman A., Activation of the human homologue of the Drosophila sina gene in apoptosis and tumor suppression, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1996) 93, 9039-9057
- 20 (8) Roperch J.-P., Alvaro V., Prieur S., Tuynder M., Nemanic M., Lethrosne F., Piouffre L., Gendron M-G., Israeli D., Dausset J., Oren M., Amson R., and Telerman A., Inhibition of presenilin 1 expression is promoted by p53 and p21 WAF-1 and results in apoptosis and tumor suppression, Nature Medicine (1998) 4, 835-838.

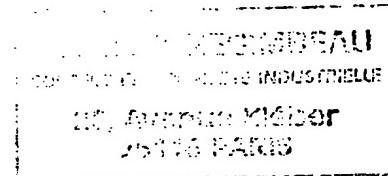
## REVENDICATIONS

- 1) Séquence nucléotidique correspondant à un gène comportant:
  - 5    (a) une séquence selon l'une des IND.SEQ 1 à 15 ou un gène équivalent qui comporte:
    - (b) une séquence s'hybridant avec l'une des séquences selon (a),
    - (c) une séquence présentant au moins 80 % d'homologie avec (a) ou (b), ou
    - (d) une séquence codant pour une protéine codée par un gène selon (a), (b)
  - 10    ou (c) ou pour une protéine équivalente.
- 2) Séquence selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'expression cellulaire du gène est induite lors de l'apoptose et/ou suppression tumorale.
- 3) Séquence selon la revendication 2, caractérisée en ce que l'apoptose et/ou la suppression tumorale est(sont) induite(s) par p53 et/ou p21.
- 15    4) Séquence selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée en ce qu'elle est choisie parmi TSAP 9 à TSAP 22 ou un gène équivalent.
- 5) Séquence selon la revendication 4, caractérisée en ce que l'apoptose et/ou la suppression tumorale est(sont) induite(s) par p53 et/ou p21.
- 20    6) Séquence selon l'une des revendication 1, caractérisée en ce qu'elle correspond au gène TSIP 3 ou un gène équivalent.
- 7) Séquence selon la revendication 6, caractérisée en ce que l'expression cellulaire du gène est inhibée lors de l'apoptose et/ou la suppression tumorale.
- 25    8) Séquence selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisée en ce que l'expression cellulaire du gène est activée par l'un au moins des transfectants choisi dans le groupe comprenant les transfectants p21, les transfectants TSAP3 et les transfectants antisens TSIP2.
- 9) Vecteur d'expression cellulaire d'une séquence selon l'une des  
30    revendications 1 à 8.
- 10) Vecteur d'expression selon la revendication 9, caractérisé en ce

- qu'il s'agit d'un vecteur viral.
- 11) Vecteur selon la revendication 10, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un adénovirus, d'un rétrovirus, d'un virus herpès ou d'un poxvirus.
- 12) Vecteur selon la revendication 9, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un vecteur à acide nucléique nu.
- 13) Vecteur selon l'une des revendications 9 à 12, caractérisé en ce qu'il comporte une séquence assurant le ciblage et/ou l'expression tissu spécifique.
- 14) Cellule transformée par un vecteur d'expression selon l'une des revendications 9 à 13.
- 15) Protéine pouvant être obtenue par culture de cellule transformée selon la revendication 14 et codée par la séquence selon l'une des revendications 1 à 8.
- 16) A titre de médicament, un vecteur selon l'une des revendications 9 à 13 ou une protéine selon la revendication 14.
- 17) A titre de médicament, un composé assurant l'expression cellulaire d'au moins une des séquences nucléotidiques selon l'une des revendications 1 à 4 ou de leurs produits.
- 18) A titre de médicament selon la revendication 16, un vecteur nucléotidique assurant l'expression cellulaire de ladite séquence.
- 19) A titre de médicament, un composé assurant l'inhibition de l'expression cellulaire d'au moins un gène cellulaire selon l'une des revendications 1, 5 à 8 ou de leurs produits.
- 20) A titre de médicament selon la revendication 19, un nucléotide activé assurant la blocage de la séquence nucléotidique.
- 21) A titre de médicament selon la revendication 19, un anticorps monoclonal dressé contre la ou les protéines codées par la séquence nucléotidique.
- 22) A titre de médicament destiné au traitement du cancer, un médicament selon l'une des revendications 16 à 21.
- 23) A titre d'agent antiviral, un médicament selon l'une des

revendications 16 à 21.

- 24) A titre d'agent de diagnostic, notamment pour la détermination de la prédisposition et le suivi des cancers, tout ou partie des séquences selon l'une des revendications 1 à 8 à utiliser comme sonde nucléotidique ou comme 5 amorce d'amplification.
- 25) A titre d'agent de diagnostic, notamment pour la détermination de la prédisposition et le suivant des cancers, un antigène correspondant à tout ou partie des protéines codées par la séquence selon l'une des revendications 1 à 8 ou les anticorps correspondants.
- 10 26) Modèle pour la mise en évidence de médicament anti-cancéreux, et/ou antiviral des cellules selon la revendication 14.



(d) une séquence codant pour une protéine codée par un gène selon (a), (b) ou (c) ou pour une protéine équivalente,  
et leur application notamment dans la suppression du cancer et/ou la résistance aux virus ainsi que dans le suivi thérapeutique.

Il convient de rappeler que les séquences 1 à 15 ne constituent qu'une partie des gènes en cause mais que la présente invention couvre aussi bien la séquence nucléotidique correspondant au gène entier que des fragments de ce gène, notamment lorsqu'ils codent pour une protéine équivalente comme cela sera décrit ci-après.

Les séquences nucléotidiques peuvent être aussi bien de l'ADN que de l'ARN ou des séquences dans lesquelles certains des nucléotides sont non naturels, soit pour améliorer leurs propriétés pharmacologiques, soit pour permettre leur identification.

Les séquences mentionnées en (b) sont essentiellement les séquences complémentaires totales ou partielles (notamment pour les cas évoqués précédemment).

Ainsi, l'invention concerne également les séquences nucléotidiques des gènes présentant une forte homologie avec les gènes mentionnés précédemment, de préférence une homologie supérieure à 80 % sur les parties essentielles desdits gènes, soit en général au moins 50 % de la séquence, de préférence l'homologie sera sur ces parties supérieure à 90 %.

Enfin, lorsque lesdits gènes codent pour une protéine, la présente invention concerne également les séquences codant pour la même protéine, compte tenu de la dégénérescence du code génétique, mais également pour les protéines équivalentes, c'est-à-dire produisant les mêmes effets, notamment les protéines délétées et/ou ayant subi des mutations ponctuelles.

Les séquences selon la présente invention sont plus particulièrement les séquences qui sont induites ou inhibées lors de l'apoptose cellulaire, notamment celles induites par p53 et/ou p21 et/ou TSAP3 (HUMSIAH) et/ou antisens-TSIP2 (antisens-PS1). En d'autres termes, ces séquences correspondent à des gènes dont l'expression cellulaire est activée par l'un au moins des transfectants choisi dans le groupe comprenant les transfectants p21, les transfectants TSAP3 et les transfectants anti-sens TSIP2.

Lesdits gènes sont regroupés en TSAP ou "Tumor Suppressor Activated

Dans la plupart des cas, il faudra prévoir des éléments de ciblage assurant une expression tissus ou organes spécifiques, en effet, il n'est pas possible d'envisager d'activer un phénomène d'apoptose incontrôlé.

La présente invention concerne donc l'ensemble des vecteurs décrits précédemment.

La présente invention concerne également les cellules transformées par un vecteur d'expression tel que décrit précédemment ainsi que la protéine pouvant être obtenue par culture de cellules transformées.

Les systèmes d'expression pour produire des protéines peuvent être aussi bien des systèmes eucaryotes tels que les vecteurs précédents que des systèmes procaryotes dans des cellules de bactéries.

I.un des intérêts de la présente invention est qu'elle a mis en évidence l'implication de plusieurs gènes dans l'apoptose ; ainsi, la surexpression de l'un des gènes par thérapie génique peut, pour certains d'entre eux, ne conduire à l'apoptose que les cellules dans lesquelles s'expriment déjà d'autres gènes dérégulés, c'est-à-dire des cellules malignes.

La présente invention concerne également, à titre de médicament, un composé assurant l'expression cellulaire d'au moins une des séquences nucléotidiques précédentes lorsqu'elle est induite lors de l'apoptose et/ou de la suppression tumorale, notamment des gènes TSAP 9 à TSAP 22, ou au contraire assurant l'inhibition de l'expression cellulaire d'au moins une séquence cellulaire telle que décrite précédemment lorsqu'elle est inhibée lors de l'apoptose et/ou de la suppression tumorale, notamment TSIP 3. Il peut s'agir par exemple d'un nucléotide activé assurant le blocage de la séquence nucléotidique ou encore d'un anticorps monoclonal dressé contre la ou les protéine(s) codée(s) par la séquence nucléotidique.

Par ailleurs, il est possible de prévoir d'autres approches que la thérapie génique, notamment l'utilisation de séquences nucléotidiques en stratégie sens ou antisens, c'est-à-dire pouvant bloquer l'expression de TSIP ou au contraire, agissant en amont, favorisant l'expression de TSAP.

On peut également prévoir une stratégie de remplacement directe par apport de protéines correspondant à TSAP ou d'anticorps inhibiteurs correspondant à TSIP.

Enfin, il est possible de prévoir l'utilisation de molécules non protéiques

## LISTE DE SEQUENCES

(1) INFORMATIONS GENERALES:

- (i) DEPOSANT:
  - (A) NOM: FONDATION JEAN DAUSSET - CEPH
  - (B) RUE: 27, RUE JULIETTE DODU
  - (C) VILLE: PARIS
  - (E) PAYS: FRANCE
  - (F) CODE POSTAL: 75010
- (ii) TITRE DE L' INVENTION: SEQUENCES ASSOCIEES A LA SUPRESSION DES CANCERS ET A LA RESISTANCE AU PARVOVIRUS H-1
- (iii) NOMBRE DE SEQUENCES: 15
- (iv) FORME DECHIFFRABLE PAR ORDINATEUR:
  - (A) TYPE DE SUPPORT: Floppy disk
  - (B) ORDINATEUR: IBM PC compatible
  - (C) SYSTEME D' EXPLOITATION: PC-DOS/MS-DOS
  - (D) LOGICIEL: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (OEB)

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 1:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
  - (A) LONGUEUR: 303 paires de bases
  - (B) TYPE: nucléotide
  - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
  - (D) CONFIGURATION: linéaire
- (ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC
- (ix) CARACTERISTIQUE:  
NOM/CLE: TSAP9

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 1:

TCGGTCATAG TCTGGATGGG ATTCA	TGATA TGAAGCAACA GCATGTCATA GAAACCTTGA	60
TTGGCAAAA GCAACAGATA TCTCTTGCAA CACAAATGGT TAGAATGATT TTGAAGATTG		120
ATGACATTG	TAAGCCTGGA GAATCTGAAG AATGAAGACA TTGAGAAAAC TATGTAGTAA	180
GATCCACTTC	TGTGATTAAG TAAATGGATG TCTCGTGATG CGTCTACAGT TATTTATTGT	240
TACATCCTT	TCCAGACACT GTAGATGCTA TAATAAAAAT AGCTGTTGG TTAAAAAAA	300
AAA		303

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 2:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
 (A) LONGUEUR: 107 paires de bases  
 (B) TYPE: nucléotide  
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple  
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC

(ix) CARACTERISTIQUE:  
 (NOM/CLE: TSAP10

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 2:

TCGGTCATAG ATATGGAGTG GAAATTTGGA GTGACATCTG GGAGCAGCGA ATTGGAGAAA	60
GTGGGAAGTA TATTTTACA ACTAAAGTTG GTGGTTAAAA AAAAAAAA	107

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 3:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
 (A) LONGUEUR: 100 paires de bases  
 (B) TYPE: nucléotide  
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple  
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC

(ix) CARACTERISTIQUE:  
 NOM/CLE: TSAP11

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 3:

TCGGTCATAG CGGTTCCAAG ATTAGCTTCT ACTGCTTCCT GTAGCTTGGC TAATATACTC	60
TGCTTTACAG CTGATGATAT GGTGTTGTTA AAAAAAAAAA	100

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 4:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
 (A) LONGUEUR: 467 paires de bases  
 (B) TYPE: nucléotide  
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple

## (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:  
NOM/CLE : TSAP12

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 4:

TCGGTCATAG TAAATTCA	G ATGAAAGAGA ATATTACAGA AAAGACAGCA GCAGAAGC	60
TAGCATTATC TAATATTTAT ATATGTTATC AACATAACAC AGCAGTAAAA GGTTTAAATG		120
CATATCAATG GGTACCATGT CTAAAATTA CTATAGTACC TATTTAGTGT ATTGGATATT		180
TTCTTAAAG AGTGTGCT GTAACTAGAA CAGCATAATA CATGATTAG TACAGTTAAT		240
TCTTATTGAT TAAATAATGT ATTTATGTAC TGAAGAAAGT GAAAAGGAGA CAGATATTTT		300
TTGCTTCATT TTGATTCCAG ATTTAACATT TAAATGAAGA TTCCAAAGGA CCATGACATG		360
TCATTATTAA ACTGAAATGG GCTTCAAAAT ATTTAAAAGA CGGTATGATT TGTATCTAAA		420
CAGCAAGGTG GCACCAAGATA CACGTAATGC TACTGGCCTA TGACCGA		467

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 5:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
 (A) LONGUEUR: 154 paires de bases  
 (B) TYPE: nucléotide  
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple  
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:  
NOM/CLE: TSAP13

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 5:

AAAGCAGAGG GGTTTATTAT AGGAACATTC TCAAACCGCA ACGGAAAAGA TGTCCGTACA		60
GGTGGATGGG GATGGAGATC CACCTCGGAG TACACAGACT TCAGGGGGCC TCCTGCCTGG		120
CACGTTCTT CTCTCCCGTA TCACCTATGA CCGA		154

**(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 6:**

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
(A) LONGUEUR: 102 paires de bases  
(B) TYPE: nucléotide  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC

(ix) CARACTERISTIQUE:  
(A) NOM/CLE: TSAP14

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 6:

GGAACCAATC CTAAAGAATA TTCTTACATA TAATAAAGAA TTCCCATTG ATGTCAGCC	60
TGTCCCATTA AGAAGAATT TGGCACCTGG TAAAAAAAAAA AA	102

**(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 7:**

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
(A) LONGUEUR: 56 paires de bases  
(B) TYPE: nucléotide  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC

(ix) CARACTERISTIQUE:  
(A) NOM/CLE: TSAP15

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 7:

GATTCTTTA ATATTTCAC AATGTTAAAA CTAAAACTGA GCTCTAGGCT ATGATC	56
---	----

**(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 8:**

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:  
(A) LONGUEUR: 90 paires de bases  
(B) TYPE: nucléotide  
(C) NOMBRE DE BRINS: simple  
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC

## (ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSAP16

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 8:

TGGATTGGTC CAGGATTGGG GTTTGCTAG TCCATAGCAA TTCAAGGGC AGTGGGCTAG	60
TGTTATGAGA ATATTGGCAA AAAAAAAA	90

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 9:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 131 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

## (ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSAP17

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 9:

CTGCTTGATG TAGGAGGGAT TAAGTTAGTA TTTCCCGTAT CGACCAAGAC AAAATTACAA	60
TATACGCATA ACAAAAGACAA ACACCAAGTTA CTTGGCTCAA TATCCAAGTT TTAACCTAGC	120
AAAAAAAAAA A	131

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 10:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 121 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

## (ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSAP18

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 10:

GGAACCAATC CCAACACAAC TGGATTCTAC TGAAATTACC ACATATTGA GGTCCACAAG	60
CACAAGTATA GATCTAATGC AAACTGGGCT CAGATTAGCA GATCCATGCC AAAAAAAA	120
A	121

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 11:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 444 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

## (ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

## (ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: TSAP19

## (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 11:

TTTTTTTTT TGGGACAGTC TTGCTGTATT GCCCAGGCTG GAGTGTGGTG GCACAATCAC	60
AGCTCATTGC ATCCTCAATC ACCCAGGCCT AAGCAATCCT CCCACCTTGT AGCTGGGACT	120
ACAGCTCACA GCACACCTGG CTAAAATTTT TTTTTGTTG AGACGGATTC TCTATGTTGC	180
CCAGGCTGGT CTCAGGCTCC TGGGCTCAGA TGGTCCTCCT GCCTCAGCTT CCAAAGGCAC	240
AGGCCAAGTT GTAGCTTGT CCCTTGCCAT CATGCCAAC AAGAGGTTCT ATACCTTTA	300
ATGAATTGAC TTTCATAAAT TGGTTATGTT GGTGGGCAAG TTCTTAAGC TGGAAATTGT	360
AAATTCCCTCC TGAAATGTTT TTTCATGCAG TTACCATGAA CTAATACTAC AATAAAGGAT	420
GGTCTTGGGT GCCAAAAAAA AAAA	444

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 12:

## (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 151 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSAP20

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 12:

GATCTGACTG TAGGGACTAT ATTCAATTACT GCTGGACTAT GCTGCTTCC CCAACCCCCT	60
AGGATTTAA AAATAGCACG CTGCACTTGA AACAGGGAA GACACTGTAT AACATCCAAA	120
TGTTCTTCTT CCCTAGAGGC CAAAAAAA A	151

**(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 13:**

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 240 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSAP21

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 13:

GATCTGACTG TAGGGTGAAT GTCTGAGGCC TGCCTCCTAA TAAAGACTCA AGGAGGAAGT	60
CAATTGGGCA TCTGCTAATA GAATGAACTC ATGATGGAAA CTTCAGTTCA TTTACTTTGT	120
CCTGAAAATT CCCTGGTTCT GTTCCATTG GAGCGAAATT GGCCTGGGA AAAACCACGT	180
TCTTCCTTCA CGATTCTCA TCCGGTCTAC GCTATGCAAT TCCTCCCCAA AAAAAAAA	240

**(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 14:**

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 260 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simpl
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC

(ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSAP22

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 14:

GGAACCAATC AGTAATTTA AGGTTTGT TGTCTAAAT GTAAGAGTTC AGACTCACAT	60
TCTATTAAA TTTAGCCCTA AAATGACAAG CCTTCTTAAA GCCTTATTT TCAAAAGCGC	120
CCCCCCCATT CTTGTCAGA TTAAGAGTTG CCAAAAAAAA AAAAAAAAAGA AAGAAAAAGA	180
AAAAAAAGAG AAAGAAATGA GAAAGAAATG AGCTTCTAGA TCAATTAGCA GTGTGTGTGT	240
GTGTGTGCCA AAAAAAAA	260

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 15:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 144 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC

(ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: TSIP3

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 15:

GGAACCAATC CAAATGCCA TCAATGATAG ACTAGATAAA GAAAATATAG TACATATGCA	60
CCATGTAATA CTATGCAGCC GTAAAAAAAAA AAAAAAAAAGACAGACAA GGCCAAGGCC	120
AGGCACGGTG GGTAAAAAAA AAAA	144

## **REVENDICATIONS**

- 1) Séquence nucléotidique correspondant à un gène comportant:

5    (a) une séquence selon l'une des IND.SEQ 1 à 15 ou  
      un gène équivalent qui comporte:  
      (b) une séquence s'hybridant avec l'une des séquences selon (a),  
      (c) une séquence présentant au moins 80 % d'homologie avec (a) ou (b), ou  
      (d) une séquence codant pour une protéine codée par un gène selon (a), (b)  
10    ou (c) ou pour une protéine équivalente,  
      caractérisée en ce que l'expression cellulaire du gène est induite ou inhibée lors  
      de l'apoptose et/ou suppression tumorale.

2) Séquence selon la revendication 1, caractérisée en ce que  
l'apoptose et/ou la suppression tumorale est(sont) induite(s) par p53 et/ou p21.

15    3) Séquence selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisée en ce  
      qu'elle est choisie parmi TSAP 9 à TSAP 22 ou un gène équivalent.

20    4) Séquence selon la revendication 3, caractérisée en ce que  
      l'apoptose et/ou la suppression tumorale est(sont) induite(s) par p53 et/ou p21.  
      5) Séquence selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle  
      correspond au gène TSIP 3 ou un gène équivalent.

25    6) Séquence selon la revendication 5, caractérisée en ce que  
      l'expression cellulaire du gène est inhibée lors de l'apoptose et/ou la  
      suppression tumorale.

      7) Séquence selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisée en ce  
      que l'expression cellulaire du gène est activée par l'un au moins des  
      transfectants choisi dans le groupe comprenant les transfectants p21, les  
      transfectants TSAP3 et les transfectants antisens TSIP2.

30    8) Vecteur d'expression cellulaire d'une séquence selon l'une des  
      revendications 1 à 7.

      9) Vecteur d'expression selon la revendication 8, caractérisé en ce  
      qu'il s'agit d'un vecteur viral.

- 10) Vecteur selon la revendication 9, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un adénovirus, d'un rétrovirus, d'un virus herpès ou d'un poxvirus.
- 11) Vecteur selon la revendication 8, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un vecteur à acide nucléique nu.
- 5 12) Vecteur selon l'une des revendications 8 à 11, caractérisé en ce qu'il comporte une séquence assurant le ciblage et/ou l'expression tissu spécifique.
- 13) Cellule transformée par un vecteur d'expression selon l'une des revendications 8 à 12.
- 10 14) Protéine pouvant être obtenue par culture de cellule transformée selon la revendication 13 et codée par la séquence selon l'une des revendications 1 à 7.
- 15 15) A titre de médicament, un vecteur selon l'une des revendications 8 à 12 ou une protéine selon la revendication 14.
- 16) A titre de médicament, un composé assurant l'expression cellulaire d'au moins une des séquences nucléotidiques selon l'une des revendications 1 à 3 ou de leurs produits.
- 17) A titre de médicament selon la revendication 15, un vecteur nucléotidique assurant l'expression cellulaire de ladite séquence.
- 20 18) A titre de médicament, un composé assurant l'inhibition de l'expression cellulaire d'au moins un gène cellulaire selon l'une des revendications 1, 4 à 7 ou de leurs produits.
- 19) A titre de médicament selon la revendication 18, un nucléotide activé assurant la blocage de la séquence nucléotidique.
- 25 20) A titre de médicament selon la revendication 18, un anticorps monoclonal dressé contre la ou les protéines codées par la séquence nucléotidique.
- 21) A titre de médicament destiné au traitement du cancer, un médicament selon l'une des revendications 15 à 20.
- 30 22) A titre d'agent antiviral, un médicament selon l'une des revendications 15 à 20.

23) A titre d'agent de diagnostic, notamment pour la détermination de la prédisposition et le suivi des cancers, tout ou partie des séquences selon l'une des revendications 1 à 7 à utiliser comme sonde nucléotidique ou comme amorce d'amplification.

5        24) A titre d'agent de diagnostic, notamment pour la détermination de la prédisposition et le suivant des cancers, un antigène correspondant à tout ou partie des protéines codées par la séquence selon l'une des revendications 1 à 7 ou les anticorps correspondants.

10      25) Modèle pour la mise en évidence de médicament anti-cancéreux, et/ou antiviral des cellules selon la revendication 13.